

**Univerzita Karlova**  
**Přírodovědecká fakulta**

Studijní program: Biologie

Studijní obor: Biologie



**Štěpán Pecka**

Invaze *Phytophthora alni* v Evropě  
Invasion of *Phytophthora alni* in Europe

Bakalářská práce

Školitel: Mgr. Karel Černý, PhD  
Konzultant: doc. Mgr. Ondřej Koukol, PhD

Praha 2020

## **Prohlášení**

Prohlašuji, že jsem závěrečnou práci zpracoval samostatně a že jsem uvedl všechny použité informační zdroje a literaturu. Tato práce ani její podstatná část nebyla předložena k získání jiného, nebo stejného akademického titulu.

V Praze, 8. 6. 2020

.....  
Štěpán Pecka

## **Poděkování**

Rád bych poděkoval svému školiteli Mgr. Karlu Černému, PhD. za cenné připomínky, rady, věnovaný čas a trpělivost při vedení bakalářské práce. Také bych chtěl poděkovat za cenné rady svému konzultantovi doc. Mgr. Ondřeji Koukolovi, PhD. Zároveň bych chtěl poděkovat i rodině za podporu při studiu a zpracování bakalářské práce.

# Abstrakt

Druhový komplex *Phytophthora alni* s. l. (Peronosporomycetes: Stramenopila; česky plíseň olšová) představuje skupinu invazních patogenů napadajících olše. Šíří se převážně vodou a způsobují hniloby kořenů a krčků končící často odumřením celého stromu. Zvláště v břehových porostech často působí značné ztráty olší a tím výrazné změny ekosystémů a vodních toků. Druhový komplex je velmi polymorfní a dělí se na tři druhy – *P. ×alni*, *P. uniformis* a *P. ×multiformis*. V Evropě a ČR nejběžnější je druh *P. ×alni*. Cílem práce je shrnout vývoj poznání jak celého komplexu *P. alni*, tak i nejvýznamnějšího taxonu *P. ×alni*, historii jeho šíření a vývoj areálu v Evropě, popsat genetickou variabilitu a vnitřní strukturu populací, jeho ekologické nároky a způsoby šíření a na základě známých výsledků popsat současný stav invaze.

**Klíčová slova:** *Phytophthora alni*, *Peronosporomycetes*, *Alnus*, patogen, hybridizace, rozšíření, břehové porosty

# Abstract

Species complex *Phytophthora alni* s. l. (Peronosporomycetes: Stramenopila) is a group of invasive pathogens of alder trees. It spreads mainly via water and causes root and collar rot often resulting in the death of attacked trees. Especially in riparian stands it often causes significant losses of alder and therefore remarkable changes of ecosystems and watercourses. The species complex is very polymorphic and divided into three species – *P. ×alni*, *P. uniformis* and *P. ×multiformis*. The most widespread in Europe and in the Czech Republic is the *P. ×alni* species. The aim of this thesis is to summarize information about *P. alni* complex (and especially of the most important taxon *P. ×alni*), to describe history of its spread and development of its area in Europe, genetic variability and inner structure of its populations, ecology and pathways of spread and, based on the known results, describe the current situation of the invasion.

**Key words:** *Phytophthora alni*, *Peronosporomycetes*, *Alnus*, pathogen, hybridization, area, riparian stands

# Obsah

1.	Úvod .....	1
2.	Základní charakteristika druhu a jeho význam.....	2
2.1.	Peronosporomycetes a <i>Phytophthora alni</i> .....	2
2.2.	<i>Phytophthora alni</i> – životní cyklus a morfologie .....	3
2.3.	Olše jako hostitel <i>P. alni</i> .....	4
2.4.	<i>Phytophthora alni</i> a fytoftorová hniloba olší.....	5
3.	Struktura druhového komplexu <i>P. alni</i> s. l. ....	7
3.1.	<i>Phytophthora uniformis</i> a <i>Phytophthora</i> × <i>multiformis</i> .....	7
3.2.	<i>Phytophthora</i> × <i>alni</i> .....	8
3.3.	Vývoj vnitrodruhové struktury uvnitř <i>P. ×alni</i> .....	9
4.	Výskyt patogenu a rozsah škod .....	12
4.4.	Evropa a svět .....	12
4.5.	Česká republika .....	15
5.	Šíření patogenu a epidemiologie choroby.....	16
6.	Závěr .....	19
7.	Přehled literatury .....	21

# 1. Úvod

V roce 1993 byl poprvé zaznamenán do té doby neznámý druh rodu *Phytophthora*, který na jihu Británie masivně poškozoval olše (*Alnus* spp.). Patogen způsoboval výrazné léze na kůře na bázi kmenů hynoucích stromů, ze kterých byl opakovaně izolován (Gibbs 1995). Izolovaný druh připomínal *Phytophthora cambivora* (Petri) Buisman, avšak ukázalo se, že oproti němu je homothalický, produkuje menší a méně životaschopná oogonia a má nižší kardinální teploty (minimum, optimum, maximum). Inokulační test pak rovněž potvrdil patogenitu tohoto druhu vůči olši. Na základě neobvyklých znaků a odlišného hostitelského spektra se dalo usuzovat, že se jedná nejspíš o nový či nově zavlečený do té doby neznámý druh (Brasier a kol. 1995). V následujících letech byl tento druh, pracovním nazvaný „alder-*Phytophthora*“ (jako české jméno se obecně vžilo plíseň olšová) (Černý a kol. 2003, Černý a kol. 2016, Jung a Blaschke 2004, Orlikowski a kol. 2003).

Brzy se také ukázalo, že se jedná o skupinu heteroploidních mezidruhových hybridů neznámých druhů příbuzných *Phytophthora cambivora* a *Phytophthora fragariae* Hickman (Brasier a kol. 1995). Později byl druh popsán jako *Phytophthora alni* Brasier & S. A. Kirk, v rámci něhož byly vylišeny tři poddruhy (Brasier a kol. 2004). Pozdější práce (Husson a kol. 2015, Ioos a kol. 2006) vedly k reklasifikaci těchto tří poddruhů na druhovou úroveň: *Phytophthora*  $\times$  *alni* (Brasier & S.A. Kirk) Husson, Ioos & Marçais, nothosp. nov., *P. uniformis* (Brasier & S.A. Kirk) Husson, Ioos & Aguayo, comb. nov. a *P. \times* *multiformis* (Brasier & S.A. Kirk) Husson, Ioos & P. Frey, nothosp. nov.

*Phytophthora*  $\times$  *alni* je vysoce polymorfní (Aguayo a kol. 2016), v Evropě nejrozšířenější (Brasier a kol. 2004) a zároveň nejagresivnější druh v rámci komplexu (Brasier a Kirk 2001). Je hybridního původu (kříženec druhů dvou druhů v komplexu – Husson a kol. 2015). *Phytophthora uniformis* je diploidní druh (Brasier a kol. 2004, Husson a kol. 2015) a je o něco méně agresivní než druh předchozí (Brasier a Kirk 2001). *Phytophthora*  $\times$  *multiformis* je poměrně polymorfní, vzácně izolovaný tetraploidní hybrid zatím neznámého původu (Brasier a kol. 2004) a je nejméně patogenní (Brasier a Kirk 2001).

V České republice byl *P. alni* poprvé izolován v roce 2001 v západních Čechách poblíž Karlových Varů (Černý a kol. 2003). Od té doby se postupně šíří směrem na východ, přičemž se pravděpodobně značně rozšířil během povodní v roce 2002. Vyskytuje se nejen v okolí větších řek, ale i menších toků a způsobuje rozsáhlé škody na olších, které jsou často dominantní dřevinou břehových porostů (Černý a Strnadová 2010). Hlavním způsobem šíření patogenu v krajině je spontánní šíření ve formě zoospor ve vodních tocích, na větší vzdálenosti pak dochází k šíření s pomocí výsadbového materiálu olší (Jung a Blaschke 2004). Společná vazba šíření a existence obou organismů – jak patogenu, tak jeho hostitele na prostředí s dostatkem až nadbytkem vody – je příčinou významných škod v prostředí (viz např. Černý a kol. 2017a), kde způsobuje škody v řádu

miliard korun (Černý a kol. 2016). Významné škody byly popsány i z řady dalších evropských států, například Anglie, Francie, Německa či Švédska (Bjelke a kol. 2016).

Druh *Phytophthora alni* je zásadním způsobem spojen se svým hostitelem (olší) a to od počátku jeho existence, kdy se předpokládá vznik tohoto hybridního taxonu v lesní školce (Brasier a kol. 1999), přes jeho překotné šíření po celé Evropě spolu se svým hostitelem a v rámci jeho populací (Bjelke a kol. 2016) a rychlý a komplikovaný vývoj (např. Husson a kol. 2015) až po současnou složitou populační strukturu (Aguayo a kol. 2016), která je pravděpodobně významně ovlivněna i vývojem struktury populace jeho hostitelů (Norkute a kol. nepublikováno, Štochlová a kol. nepublikováno).

Cílem práce je na základě dosavadních poznatků shrnout vývoj poznání komplexu *P. alni*, historii šíření a vývoj areálu v Evropě, popsat variabilitu a vnitrodruhovou strukturu komplexu (a zejména taxonu *P. ×alni*), jeho ekologické nároky a způsoby šíření a na základě známých výsledků popsat současný vývoj invaze.

## 2. Základní charakteristika druhu a jeho význam

### 2.1. Peronosporomycetes a *Phytophthora alni*

*Phytophthora alni* je relativně nově popsáný komplex patogenů náležejících do superskupiny SAR, skupiny Stramenopiles, třídy Peronosporomycetes (=Oomycetes; oomycety; řasovky) (Adl a kol. 2012). Oomycety mohou v mnoha ohledech připomínat houby (např. stavbou těla) a dříve byly zařazeny do systému hub (říše Fungi). Oproti nim však mají buněčnou stěnu převážně z celulózy, mají diplontní životní cyklus, jako zásobní látku používají mykolaminaran, zoospory mají dva heterokontní bičíky atp. (Brasier a Hansen 1992, Erwin a Ribeiro 1996). Na základě výše zmíněných znaků a především molekulárních dat jsou řazeny do příbuzenstva různobrvků, zlativek, chaluh a dalších organismů (Derelle a kol. 2016, Erwin a Ribeiro 1996).

Oomycety jsou známy především jako významné rostlinné patogeny způsobující často značné ekonomické škody, například rod *Phytophthora*, který byl popsán v roce 1876 de Barym, patří mezi vůbec nejvýznamnější patogeny rostlin – druhy tohoto rodu každoročně způsobují celosvětově škody ve výši miliard dolarů. Samotné jméno *Phytophthora* pochází z řeckých slov *phytón* (rostlina) a *phthorá* (zhoubu). Patří sem třeba *Phytophthora infestans* (Mont.) de Bary (plíseň bramborová, typový druh rodu), *Phytophthora cinnamomi* Rands (plíseň skořicová), *Phytophthora cactorum* (Lebert & Cohn) J. Schröt. a další (Erwin a Ribeiro 1996). Nejvýznamnější druh *Phytophthora infestans* byl příčinou Velkého irského hladomoru v polovině 19. století. Tehdy Irové následkem jeho introdukce přišli opakovaně o úrodu brambor, jejichž kultury tento druh zavlečený

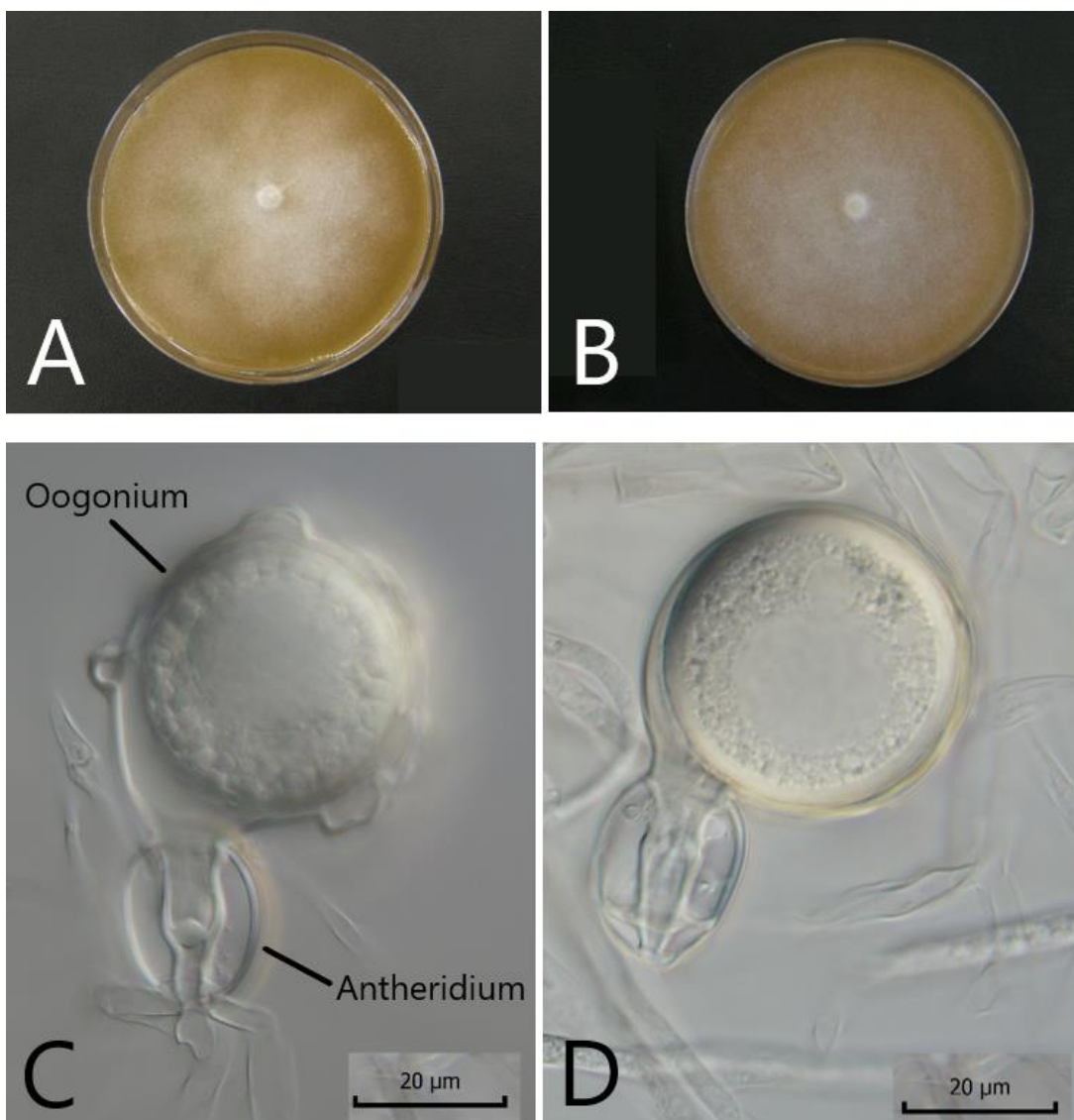
z Ameriky za přispění deštivého počasí zcela zdecimoval. Odhaduje se, že Irsko během hladomoru přišlo o čtvrtinu obyvatel, kteří buď emigrovali, nebo zemřeli hladem (Schumann 1991).

Druh *P. alni* byl poprvé izolován z olše lepkavé na jihu Británie na počátku 90. let 20. století (Gibbs 1995).

## 2.2. *Phytophthora alni* – životní cyklus a morfologie

*Phytophthora alni* (stejně jako většina druhů rodu *Phytophthora*) je ve svém životním cyklu vázán významně na vodní prostředí (např. i půdní voda), kde mohou jako důležitý prostředek šíření sloužit plovoucí dvoubíčíkaté zoospory, které pomocí chemotaxe aktivně vyhledávají pletiva svého hostitele (především kořenové špičky, ale pravděpodobně i lenticely nebo místa s narušenou borkou), přisedají na ně a encystují se. Pletiva hostitele posléze *P. alni* pomocí hyalinních nepřehrádkovaných hyf kolonizuje a postupně nekrotizuje. Při pohlavním procesu (gametangiogamii) se spolu setkávají větší samičí oogonia a menší samčí antheridia, kterými oogonia prorůstají a antheridia jsou tedy tzv. amfigynní. Uvnitř oogonií vzniká vždy jedna oospora. Produkce chlamydospor, které vznikají nepohlavně a pomáhají překonat nepříznivá období, nebyla u *P. alni* pozorována. Z mycelia nebo oospor v přítomnosti vody vyrůstají sporangiofory, nesoucí sporangia, která produkují velké množství nepohlavních dvoubíčíkatých zoospor (Bjelke a kol. 2016, Erwin a Ribeiro 1996, Lonsdale 2003).

Na agaru (V8A, nebo CA) tvoří epidemiologicky nejdůležitější druh komplexu (viz kapitola struktura druhového komplexu) – *P. ×alni* obvykle přitisklé uniformní kolonie s vatovitým vzdušným myceliem (viz obr. 1), jehož optimální růstová teplota je 23–25°C. Kmeny jsou homothalické (k pohlavnímu procesu stačí jeden jedinec) a produkují velké množství amfigynních antheridií spolu se sférickými oogonií (průměr 28–55 µm). Oogonia mají ve většině případů ornamentované stěny (viz obr. 1). Mnoho oospor bývá abortovaných, někdy až 60 %. Sporangiofory jsou jednoduše nebo sympodiálně větvené s koncovými elipsovíty až vejcovíty sporangii (38–65 × 25–41 µm; Černý a Strnadová 2010). Druhý nejčastěji izolovaný druh *P. uniformis* má oproti tomu oogonia v typickém případě bez ornamentace (viz obr. 1) a abortovaných, nebo netypických oospor je velmi malý počet (<10 %) (Brasier a kol. 2004).



Obr. 1: *Phytophthora alni*. (A) Kolonie *P. xalni* (Foto K. Černý); (B) Kolonie *P. uniformis* (Foto K. Černý); (C) Amifigynní antheridium a ornamentované oogonium *P. xalni* (Foto Š. Pecka a O. Koukol); (D) Amifigynní antheridium a oogonium *P. uniformis* (Foto Š. Pecka a O. Koukol)

### 2.3. Olše jako hostitel *P. alni*

Olše (*Alnus* spp.) obecně nejsou příliš kompetičně zdatné stromy (vadí jim například zástín), avšak rostou rychle a jsou dobře adaptované pro růst na podmáčených stanovištích a v místech, kde není příliš vysoká konkurence okolních stromů (tj. např. břehy vodních toků, mokřady, atp.). Za pomoci symbiotických bakterií dovedou poutat vzdušný dusík a tak tolerovat i horší půdní podmínky. Po založení kořenového systému zvládají i sušší období roku, avšak velmi mladé stromy jsou k suchu náchylné, a tak se lépe ujímají v místech s dostatkem vody (McVean 1953, Claessens a kol. 2010).



*Alnus glutinosa* (L.) Gaertn. (olše lepkavá) je ze všech druhů olší v Evropě nejrozšířenější. Dorůstá až do výšky 35 m, má kuželovitou korunu a spíše srdčitý kořenový systém. Je to dřevina krátkověká a jen zcela výjimečně se může dožít 200 let. Je náročná na světlo a vláhu v půdě. Roste na podmáčených a těžkých půdách, převážně na říčních březích. Často se používá ke zpevnění břehů nebo ke stabilizaci svahů (Úradníček a kol. 2001).

*Alnus incana* (L.) Moench (olše šedá) se vyskytuje ve střední a východní Evropě a v jižních oblastech svého výskytu roste především v horských oblastech. Dorůstá až do výšky 20 m a zcela výjimečně se dožívá 100 let. Dobře zvládá mrazy a stačí jí krátká vegetační doba. Dobře toleruje sucho i zaplavování a stejně jako *Alnus glutinosa* stabilizuje svahy a říční břehy, často na šterkových naplaveninách (Úradníček a kol. 2001).

*Duschekia alnobetula* (Ehrh.) Pouzar je horský keřovitý druh olše, vyskytující se převážně v Alpách. U nás se přirozeně vyskytuje v jižních Čechách, ale byl do řady zejména horských oblastí introdukován. Může být až 3 m vysoký, snáší jen slabý zástín. Kořenový systém je dobře rozvinutý a brání erozi (Úradníček a kol. 2001).

*Alnus cordata* (Loisel.) Desf. (olše srdčitá) je druh mediteránní, který preferuje teplejší klima (Jung a Blaschke 2004).

Olše tvoří jednu ze základních složek břehových porostů podél vodních toků v Evropě. Pomocí členitých kořenových systémů stabilizují břehy a vytváří prostředí k životu mnoha druhů bezobratlých, kteří poté slouží jako potrava rybám atd. Produkce dusíku je mezi stromy rostoucími v podobném prostředí ojedinělá, je zásadní z hlediska koloběhu živin a zároveň umožňuje využití dřeviny v melioračních výsadbách. Nezanedbatelná je i produkce kvalitního dřeva, které se využívá třeba při výrobě papíru nebo v truhlářství (Claessens a kol. 2010, Bjelke a kol. 2016, McVean 1953).

Olše je jediný známý přirozený hostitel *P. alni* – patogen je znám ze čtyř evropských (*A. glutinosa*, *A. incana*, *A. cordata* a *Duschekia alnobetula*) a dvou severoamerických (*A. rubra* Bong. a *A. incana tenuifolia* (Nutt.) Breitung) taxonů (Adams a kol. 2010, Brasier a kol. 2004, Ioos a kol. 2006, Sims a kol. 2015). V České republice byl zjištěn na *A. glutinosa* a *A. incana* (Černý a Strnadová 2010).

## 2.4. *Phytophthora alni* a fytoftorová hniloba olší

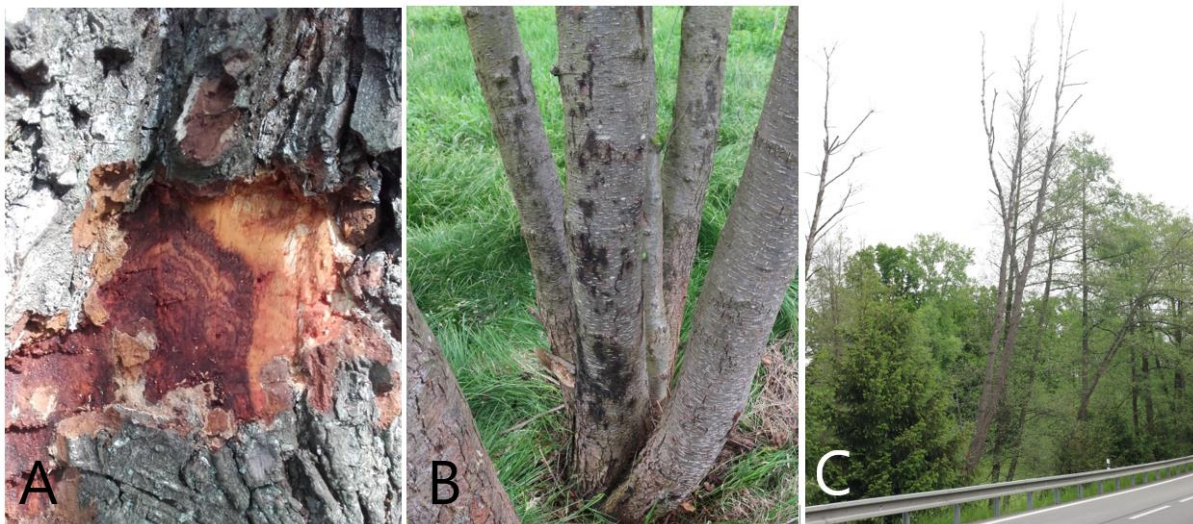
*Phytophthora alni* s. l. bez svého hostitele přežívá jen velmi omezenou dobu, což se potvrdilo v Bavorsku, kde po vykácení napadených výsadeb olší došlo během dvou let i k vymizení patogenu (nikoliv však jiných druhů r. *Phytophthora*), což ukazuje na silnou vazbu druhu *P. alni* na olše a zároveň jeho potíže s přežíváním v prostředí bez přítomnosti hostitele (Jung a Blaschke 2004). *Phytophthora alni* způsobuje onemocnění olší nazývané fytoftorová hniloba kořenů a krčků olše, nebo jen zkráceně fytoftorová hniloba olší (Černý a kol. 2016).

Hlavním prostředkem šíření jsou pravděpodobně zoospory. Patogen do pletiv svých hostitelů může pronikat několika způsoby. Zoospory jsou schopny napadat přímo jemné kořenové vlášení vystavené infekci, nicméně tento způsob není pravděpodobně z epidemiologického hlediska příliš významný. V praxi jsou podstatně významnější infekce krčků a horních stran hlavních kořenů, které v terénu převažují. Ve výsadbách, které nebyly vystaveny zaplavení a kde k infekci došlo skrze jemné kořeny v půdě, trvalo osm let, než patogen dosáhl krčku, poté ovšem došlo k intenzivnímu rozvoji infekce, kdy patogen prorostl skrz kmen o 40 cm během jediného roku (Lonsdale 2003). Krčky a horní strany hlavních kořenů jsou části, kde jsou pozorovány největší léze a které jsou pravděpodobně nejčastěji vystaveny infekci při zaplavení, kdy jsou infekčním inokulem plovoucí zoospory či kolonizované zbytky pletiv unášené vodou (Lonsdale 2003).

Symptomy fytoftorové hniloby kořenů a krčků olše způsobené *P. alni* zahrnují nejen černání napadených a odumřelých kořenů hostitelů, ale také výtoky tmavých pigmentů na bázi kmene na povrchu borky (nebo v jejích trhlinách) nad nekrotizovanými pletivy (viz obr. 2), které jsou zvlášť patrné v létě a začátkem podzimu. Po odstranění borky jsou často vidět oranžové až červené jazykovité nekrózy vodivých pletiv, které mohou být i několik metrů dlouhé a v období nejvyšší aktivity patogenu mohou přirůstat i o 3–7 mm denně. V důsledku odumření částí kořenového systému či přerušení transportu vody a živin v důsledku nekrotizace krčku dochází ke změnám v nadzemních částech rostlin. Nápadné je zejména žloutnutí olistění (nedostatek dusíku pro syntézu chlorofylu), zmenšení a řednutí olistění. Později dochází k usychání koncových větví a později i větví nižších řádů a prosychání korun. Tyto symptomy jsou obvykle viditelné už z velké dálky a v břehových porostech jsou patrná ohniska napadených a odumírajících stromů (viz obr. 2). Pokud je napadení intenzivní, umírají dospělé stromy během několika let nebo jsou nenávratně poškozeny. Mladé stromy umírají často už po prvním roce silného napadení (Černý a Strnadová 2010).

Úhyn olší způsobuje významné ekosystémové škody – redukce korun olší a tím pádem zástinu může vést ke zvýšení teploty vody, nárůstu biomasy řas a eutrofizaci, redukce kořenových systémů vede ke zvýšené erozi a změnám v korytě toků, i ekonomické škody. Pokud olše z určité lokality vymizí, mohou zůstat břehy úplně beze stromů, nebo mohou olše nahradit jiné druhy, kterých však na stejných lokalitách nedovede růst příliš mnoho (Bjelke a kol. 2016, Černý a kol. 2016, Thoirain a kol. 2007).

Mezi možné náhrady patří třeba vrba nebo jasan, který je však v poslední době pod tlakem jiného patogenu – *Hymenoscyphus fraxineus* (Landolt a kol. 2016). Problém s obtížnou náhradou olší je obzvlášť významný v boreálních oblastech, kde je obecně diverzita dřevin nižší než v teplejších oblastech (Bjelke a kol. 2016).



Obr. 2: Fytoftorová hniloba kořenů a krčků olše. (A) Nekrózy vodivých pletiv pod borkou; (B) Charakteristické výtoky exudátů na kmenech mladých olší; (C) Ohniskovité chřadnutí porostu (Foto Š. Pecka)

### 3. Struktura druhového komplexu *P. alni* s. l.

Brzy po objevu napadených olší a izolaci původce jejich onemocnění se ukázalo, že se jedná o okruh heteroploidních mezidruhových hybridů neznámých druhů příbuzných *P. cambivora* a *P. fragariae*, jehož jednotlivé linie byly pojmenovány jako standardní forma, německá, holandská, švédská a anglická varianta (standard form, German, Dutch, Swedish and U.K. variants), jejichž zastoupení se v jednotlivých zemích lišilo (Brasier a kol. 1995). Po popisu druhu *P. alni* byla jeho vnitrodruhová variabilita dočasně vyřešena na úrovni jednotlivých poddruhů: *P. alni* subsp. *alni*, (kam byla zařazena standardní forma), *P. alni* subsp. *uniformis* (švédská varianta) a *P. alni* subsp. *multiformis*, kam byly zařazeny německá, holandská a anglická varianta (Brasier a kol. 2004). Francouzští genetici (Husson a kol. 2015, Ioos a kol. 2006) později na základě studií jaderné a mitochondriální DNA dokázali, že *P. alni* subsp. *alni* vznikl opakovanou hybridizací druhých dvou poddruhů. *P. alni* subsp. *alni* je allotriploidní hybrid allotetraploidního *P. alni* subsp. *multiformis* a diploidního taxonu *P. alni* subsp. *uniformis*. Tento výsledek vedl k reklasifikaci těchto tří poddruhů a jejich povýšení na druhovou úroveň: *Phytophthora*  $\times$  *alni*, *Phytophthora uniformis* a *Phytophthora*  $\times$  *multiformis* (Husson a kol. 2015).

#### 3.1. *Phytophthora uniformis* a *Phytophthora* $\times$ *multiformis*

Druh *P. uniformis* je znám z Evropy a jako jediný z komplexu i ze Severní Ameriky z Aljašky a Oregonu (Adams a kol. 2010, Aguayo a kol. 2013). Aguayo a kol. (2013) studovali diverzitu obou populací pomocí analýzy mikrosatelitů a výsledky porovnali pomocí Simpsonova indexu (D), indexu vyrovnanosti (E) a indexu klonální bohatosti (R). V rámci severoamerické populace identifikovali

sedm genotypů, zatímco v evropské pouze tři, obě populace se navíc významně lišily ve všech sledovaných indexech – v rámci evropské byla zjištěna např. nízká genotypová bohatost ( $D=0,18$ ) a vyrovnanost ( $E=0,14$ ) oproti severoamerické ( $D=0,75$ ;  $E=0,65$ ). Na základě nízké genotypové bohatosti (do dominantního genotypu náleželo 91 % izolátů), a spíše klonální struktury populace tohoto druhu v Evropě, a naopak velké rozmanitosti severoamerických populací usoudili, že byl tento druh odtud do Evropy zavlečen. Jeho introdukce a následné rozšíření (pravděpodobně z lesních školek – Jung a Blaschke 2004) pak vedlo k hybridizaci s druhem *P. ×multiformis*, jehož původ a předci jsou však i vzhledem k tomu, že je izolován velmi zřídka, stále neznámí (Aguayo a kol. 2016, Iosifidis a kol. 2006). V rámci tohoto druhu bylo v rámci Evropy zjištěno 5 genotypů, indexy diverzity byly vyšší než u *P. uniformis* ( $D=0,59$ ;  $E=0,72$ ) a do dominantního genotypu náleželo 56 % izolátů (Aguayo a kol. 2016).

Výsledkem hybridizace zmíněných druhů je tedy triploidní druh *P. ×alni*, který ve většině oblastí oba své rodiče nahrazuje (Redondo a kol. 2015, Brasier a Kirk 2001), jejich diverzita však byla částečně „fosilizována“ v subgenomech dceřinného druhu (Aguayo a kol. 2016).

### 3.2. *Phytophthora ×alni*

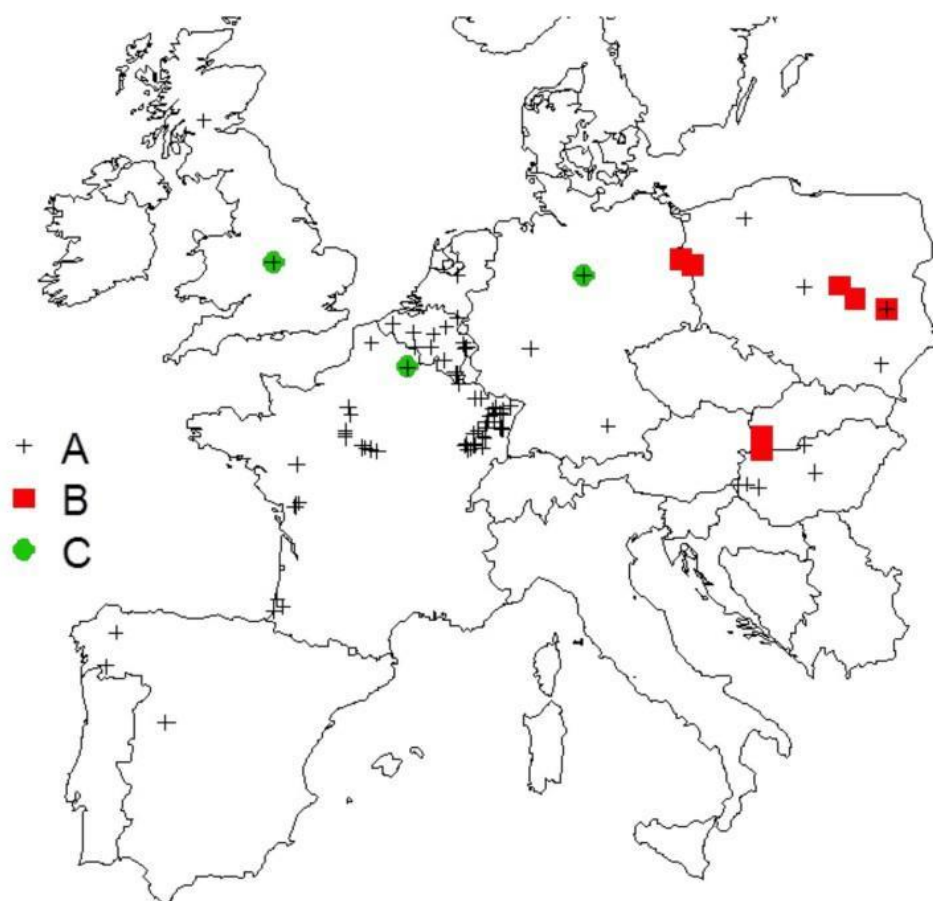
Simulovaným křížením dostupných rodičovských linií se podařilo odhalit pravděpodobné předky 89 % izolátů *P. ×alni*. V rámci práce bylo rovněž identifikováno 30 různých multilokusových genotypů (některé z nich nebyly v populacích rodičovských druhů zachyceny). U některých izolátů stejného multilokusového genotypu byla nalezena různá mitochondriální DNA pocházející buď od jednoho, nebo druhého předka. To naznačuje možnost vícenásobného křížení mezi stejnými předky, přičemž mitochondrie mohly přijít od jednoho, nebo od druhého. Většina (80 %) izolátů měla mitochondrie pravděpodobně původem od *P. ×multiformis* (Iosifidis a kol. 2006, Aguayo a kol. 2016), což znamená, že kmeny *P. uniformis* častěji sloužily v pohlavní hybridizaci jako kmeny anteridiální. Na základě kombinované analýzy mikrosatelitů a mitochondriální DNA se ukázalo, že k hybridizaci obou druhů došlo přinejmenším 13× (Aguayo a kol. 2016).

V rámci analýzy jednotlivých subgenomů *P. ×alni* se pracovalo s 34 různými alelami celkem pro 12 různých lokusů. Polymorfismus byl obecně nízký, avšak každý lokus vykazoval polymorfismus minimálně u jednoho z druhů z komplexu *P. alni*. Nejvíce alel bylo společných buď *P. uniformis* a *P. ×alni* (12), nebo *P. ×multiformis* a *P. ×alni* (14). V rámci *P. ×alni* se podařilo všechny alely přiřadit k jednotlivým subgenomům. Tři alely byly nalezeny jen u *P. ×alni*, a protože byly nalezeny vždy jen u několika jedinců, byly to pravděpodobně nově vzniklé mutace. U *P. uniformis* byly zaznamenány čtyři unikátní alely, přičemž tři z nich byly detekovány jen v rámci amerických populací. U *P. ×multiformis* žádná unikátní alela detekována nebyla a jedna alela byla sdílena mezi všemi třemi druhy (Aguayo a kol. 2016).

### 3.3. Vývoj vnitrodruhové struktury uvnitř *P. ×alni*

Průzkum variability ukázal, že druh *P. ×alni* je sice značně polymorfní (bylo detekováno 26 genotypů), nicméně indexy diverzity byly nízké či v nejlepším případě střední ( $R=0,05$ ,  $D=0,35$ ,  $E=0,29$ ; Aguayo a kol. 2016). V rámci zkoumané populace byl zjištěn jeden dominantní genotyp, zahrnující cca 80 % z celkového počtu 269 studovaných izolátů, osm genotypů se třemi až deseti izoláty a 17 genotypů bylo zachyceno jednou (Aguayo a kol. 2016). V rámci následující studie pokrývající i českou populaci (Norkute a kol. nepublikováno) byl celkový obrázek potvrzen, nicméně bylo detekováno pomocí stejné metodologie dalších 24 vzácných, lokálně se vyskytujících multilokusových genotypů. V České republice bylo celkem potvrzeno 21 z těchto genotypů, přičemž dominantní genotyp označený jako Pxa-1 (popř. MLG Pxa-1) tvořil 51 % populace. Mnoho z těchto vzácných genotypů vzniklo po ztrátě alel a heterozygosity převážně v rámci subgenomu *P. ×multiformis*, který je pravděpodobně méně stabilní než subgenom *P. uniformis*. Ztráta heterozygosity by mohla jeho stabilitu zvýšit nebo by mohla sloužit jako adaptace na stresové podmínky nebo by to mohl být jen výsledek genetického driftu v izolované populaci, která mohla vzniknout například po významném úbytku olší způsobeném patogenem či následkem kácení poškozených porostů olší (Norkute a kol. nepublikováno).

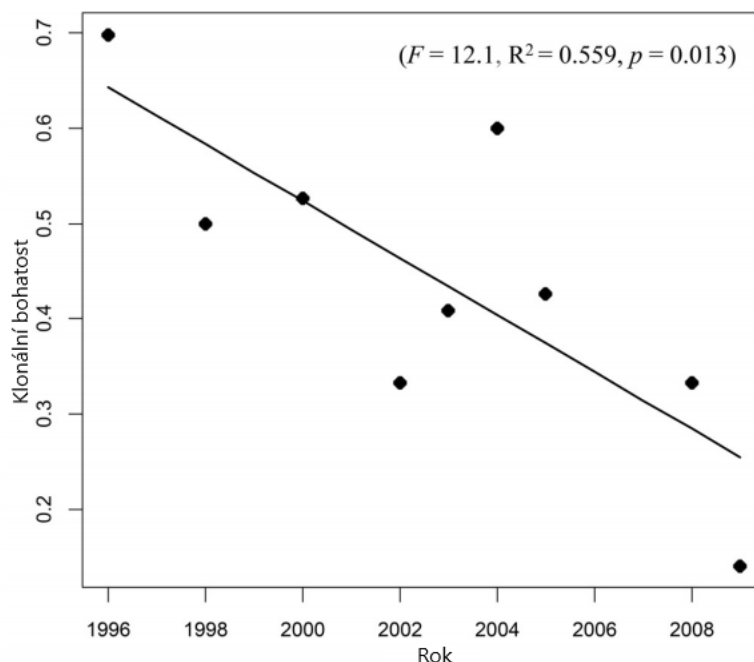
Pomocí Bruvovy vzdálenosti a PCA (analýza hlavních komponent) byla dále zjištěna populační struktura *P. ×alni*. Druh byl rozdělen do tří shluků, které byly pro účely studie označeny jako A, B a C (viz obr. 3) – v nejčastěji zastoupeném shluku (A) bylo 91 % izolátů pocházejících v podstatě z celého areálu *P. ×alni*, avšak nejvíce ze západní Evropy. V druhém shluku (B) byly soustředěny izoláty z východní části areálu druhu (tj. např. Polsko, Maďarsko). K oběma shlukům se díky multilokusovým genotypům podařilo přiřadit i všechny tři evropské rodičovské linie *P. uniformis*. Nepříliš jasná zůstala situace shluku posledního (C), nejmenšího sdružující nevelké množství izolátů z Německa, Francie a Anglie (Aguayo a kol. 2016), kde v daných lokusech chyběly alely – tudíž jejich předpokládaný rodič nebyl dosud izolován. Vzhledem k tomu, že všechny tyto izoláty byly zachyceny v západní Evropě, kde se *P. ×alni* vyskytuje dlouhou dobu, lze vzhledem k jeho vyšší virulenci (viz – Redondo a kol. 2015, Štochlová a kol. 2013) předpokládat, že jejich rodičovský genotyp mohl být již vytlačen, nebo byl tak vzácný, že se ho nepodařilo zachytit. Z časového hlediska se ukázalo, že izoláty z nejméně zastoupeného shluku (C) byly nasbírány většinou okolo roku 1999, tedy v časnějších fázích interakce populací obou taxonů, a naproti tomu izoláty z druhých dvou skupin více kolem let 2006 a 2007 (Aguayo a kol. 2016).



Obr. 3: Populační struktura *P. xalni* odhalená pomocí Bruvovy vzdálenosti a PCA. Popis shluků je uveden v textu. Převzato z Aguayo a kol. (2016) a upraveno

S postupem času také statisticky signifikantně rostlo zastoupení hlavní linie (MLG Pxa-1) v populaci, a tedy klesalo množství unikátních genotypů *P. xalni* (Aguayo a kol. 2016). To mohlo být způsobeno genetickým driftem, který mohl vzácnější populace eliminovat, například během pro *P. xalni* nepříznivých podmínek jako je horké léto nebo mrazivá zima, avšak ten se projevuje spíše u menších izolovaných populací (Aguayo a kol. 2014, Černý a Strnadová 2012). Druhé vysvětlení by byla rozdílná biologická zdatnost (fitness) jednotlivých linií *P. xalni*, a tím pádem přirozený výběr ve prospěch nejzdatnější linie. Jaký mechanismus stál za vzrůstající dominancí jediné linie, není jasné. Výsledek – tedy zjištěný pokles diverzity uvnitř taxonu – mohlo však ovlivnit nevhodné vzorkování populace. Např. v roce 2009 bylo získáno 42 % všech hodnocených vzorků *P. xalni*, přičemž převážná jejich část získaná v tomto roce (56 %) pocházela z Maďarska z geograficky velmi omezené oblasti (řeka Rée a řeka Zala spolu s jezerem Balaton, kam se vlévá) a další velké množství vzorků pocházelo z geograficky vymezených oblastí Francie a Belgie (řeky Sèvre, Niortaise, Loire, Máza; Aguayo a kol. 2016; Supplemental material – Table S1). Drtivá část vzorků z tohoto roku (cca 90 %) náležela dominantnímu genotypu Pxa-1, a byla tedy logicky zjištěna nejnížší

klonální bohatost. Mohlo se ovšem stejně tak jednat o populace výrazně ovlivněné zakladatelem, kterým byl pravděpodobně právě dominantní (obr. 4; Aguayo a kol. 2016) a zároveň nejvíce patogenní genotyp (Štochlová a kol. nepublikováno), což by nejen výrazně ovlivnilo celkový výsledek, ale i jeho interpretaci (Norkute a kol. nepublikováno).



Obr. 4: Změny indexu klonality *P. xalni* od počátku šíření v Evropě. Pokles genotypové diverzity je způsoben vzrůstající dominancí nejrozšířenějšího genotypu Pxa-1. Převzato z Aguayo a kol. (2016) a upraveno

Opačný trend naznačují dvě recentní studie, které ukazují naopak na pokles frekvence výskytu hlavní linie *P. xalni* (MLG Pxa-1) v průběhu evoluce patogenu a zvyšování podílu nových linií (které jsou signifikantně méně patogenní) odvozených od původní linie ztrátou heterozygosity. Dominantní MLG Pxa-1 byl v některých zemích pravděpodobně zakladatelem populace – velmi vysoký podíl v populaci *P. xalni* má kupříkladu v Litvě, kde je pravděpodobně okrajový areál druhu, nebo v hornatém Švýcarsku, kde se patogen vyskytuje poměrně krátkou dobu. Naopak v jiných oblastech, kde už se vyskytuje delší období (např. Čechy), jeho zastoupení klesá (Norkute a kol. nepublikováno, Štochlová a kol. nepublikováno). Studie také odhalily, že struktura lokálních populací je do určité míry určována jednotlivými říčními systémy, které jsou od sebe izolovány, a tak se v nich mohou lokální populace vyvíjet odděleně (Norkute a kol. nepublikováno). Pravděpodobně zde má značný význam i genetický drift. Proces, který pravděpodobně probíhá např. na území Čech v rámci druhu *P. xalni* – tedy postupné hromadění mutací v izolovaných populacích patogenu a snižování jejich fitness – se nazývá Mullerova rohatka (Milgroom 2015). Postupná stabilizace populací méně virulentních linií dává naději na postupnou stabilizaci patosystému olše–*Phytophthora alni* a zmírnění významu a dopadu fytoftorového odumírání olší. Situaci pak může napomoci i variabilita v rezistenci populací olší a v důsledku by tak mohlo dojít i k

dílčí obnově populací olší v břehových porostech a posílení jejich významu a stabilizačních a ekologických funkcí (Štochlová a kol. nepublikováno).

## 4. Výskyt patogenu a rozsah škod

### 4.4. Evropa a svět

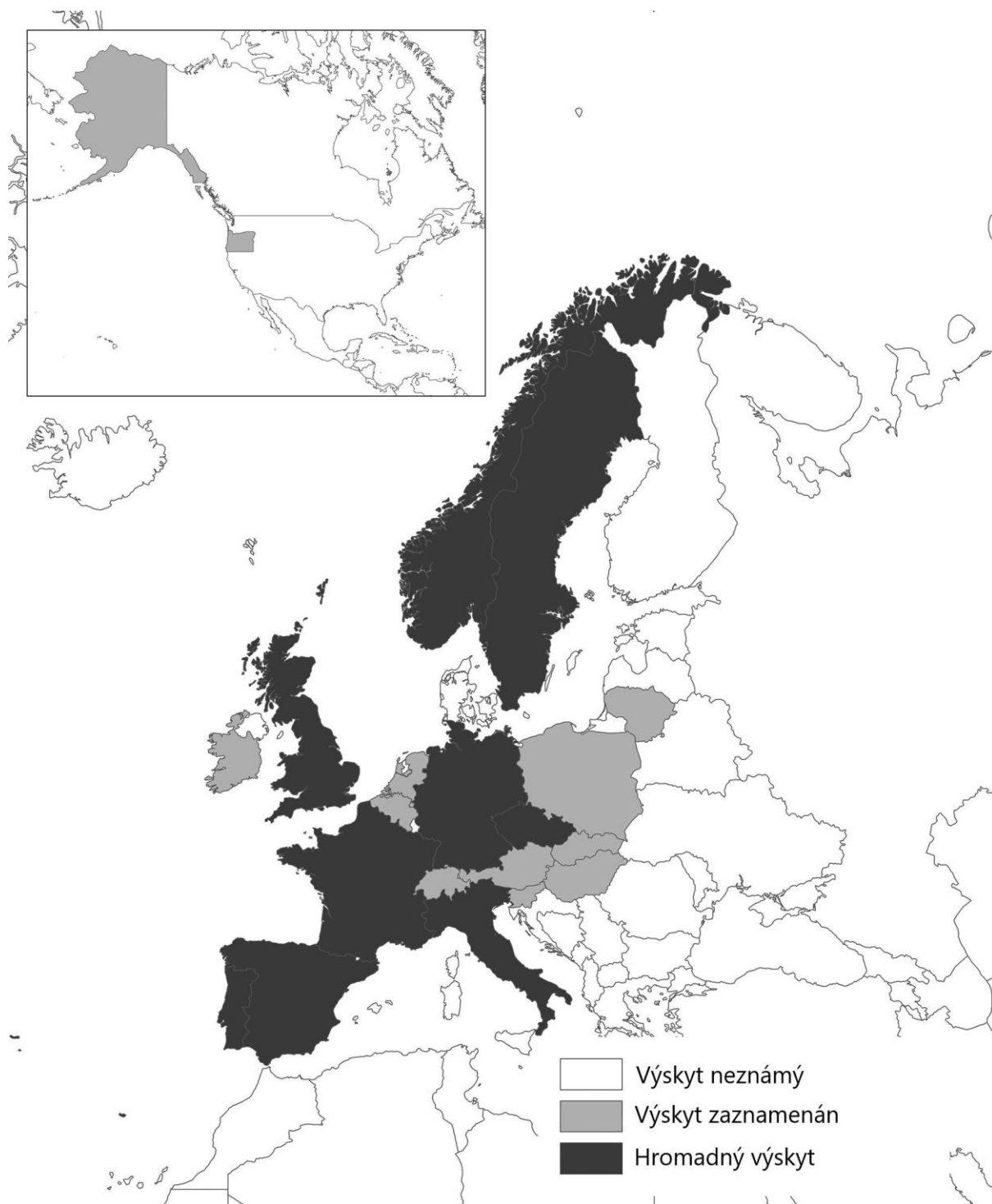
*Phytophthora alni* je jeden z několika patogenů stromů, které momentálně způsobují významné škody v břehových porostech vodních toků v Evropě (Bjelke a kol 2016). Patogen *P. alni* byl poprvé objeven na jihu Velké Británie v roce 1993. V průběhu roku 1994 se ukázalo, že stromů se symptomy choroby, kterou patogen způsobil, zde bylo značné množství, převážně v břehových porostech, ale někdy i v rámci větrolamů nebo nových lesních výsadeb, které mohly být i značně vzdálené od vodních toků (Gibbs 1995). Brzy poté byl patogen objeven i v severozápadním Německu (Hartmann 1995), Francii (Streito a kol. 2002) a Rakousku (Cech 1997). Následně, s tím jak se zvýšilo povědomí o patogenu, byl zjištěn v celé řadě dalších států západní a střední Evropy – Belgii, Nizozemsku, Česku, Polsku, Maďarsku atd. (Brasier a kol. 2004, Černý a kol. 2003, De Merlier a kol. 2005, Orlikowki a kol. 2003, Szabó a kol. 2000) a v přilehlých oblastech jižní (severní Itálie – Santini a kol. 2001) i severní Evropy (Švédsko – Redondo a kol. 2015, Olsson 1999) V poslední době byl patogen, jak se postupně jeho areál rozšiřoval, zjištěn například ve Španělsku (Pintos a kol. 2010) a Portugalsku (Kanoun-Boulé a kol. 2016). Podrobnější mapa rozšíření z roku 2016 viz obrázek 5.

Kromě Evropy byl patogen nalezen i v Severní Americe. Poprvé na Aljašce (Adams a kol. 2008) a následně i v Oregonu, avšak jednalo se pouze o druh *P. uniformis*, který je tam původní, široce rozšířený, ne tolik agresivní a byl odtud pravděpodobně zavlečen do Evropy (Aguayo a kol. 2013).

V některých státech a územích, kde se patogen plošně rozšířil, proběhly podrobnější průzkumy jeho distribuce a způsobů šíření. Průzkumy a mapování byly zpravidla zaměřeny na olše a na základě symptomů onemocnění způsobeného *P. alni*, popsaných v kapitole základní charakteristika, bylo poté popisováno rozšíření. Např. v Anglii se ukázalo, že patogen je široce rozšířený s těžištěm výskytu na jihovýchodě země, kde byl v roce 1994 zaznamenán dokonce téměř na polovině všech lokalit s výskytem olše (oproti tomu třeba ve Skotsku, kde bylo olší také mnoho, byl záznam pouze z jednoho místa). Výsledky naznačovaly, že právě probíhala epidemie choroby, protože v průběhu výzkumu mezi lety 1994 a 1996 přibývalo stromů se symptomy choroby o 45 %, a



mrtvých stromů dokonce téměř 100 % (stále to však bylo cca 8 % z celkového počtu olší) (Gibbs a kol. 1999).



Obr. 5: Mapa rozšíření patogenu v roce 2016. Převzato z Bjelke a kol. (2016) a upraveno

Ve Francii bylo pozorováno první významnější odumírání olší na začátku 90. let minulého století. Olše lepkavá je ve Francii rozšířena podél mnoha řek a potoků a dominuje v některých vlhčích lesních ekosystémech. Často se sází pro zpevnění břehů, někdy v kombinaci s dalšími druhy.

První známky možné přítomnosti *P. alni* ve Francii pochází z počátku 90. let. V roce 1995 začalo několik institucí na základě požadavku Evropské unie pátrat po *P. alni*. Ta byla poprvé nalezena v roce 1996 na východě Francie (Lotrinsko) a nezávisle na tom také v jihozápadní Francii (oblast Landes). Poté se v letech 1997 a 1998 přistoupilo k rozsáhlejšímu průzkumu, kdy se na základě symptomů pátralo po dalších napadených stromech a z jednotlivých lokalit se poté odebíraly vzorky. Nejčastěji byl druh *P. alni* zjišťován ve východní a západní Francii. Počet napadených nebo mrtvých stromů se však na jednotlivých lokalitách často značně lišil (od méně než 5 % stromů až k téměř 65 %). Některá pozorování také ukazovala, že se patogen dovede v některých lokalitách šířit velmi rychle. Patogen byl nalezen nejen v břehových porostech mnoha větších řek (Sára, Mosela, Oise, Marna, Charente, Lot, aj.), ale i na jejich přítocích, v přilehlých rybnících, jezerech a i v menším počtu sezónně zaplavovaných lesích. Nejvyšší incidence choroby byla pozorovaná v okolí řeky Charente na západě Francie. Zde bylo také pozorováno, že stromy nejbližší vodě jsou obvykle nejvíce napadené. Na lokalitách byly často přítomné mrtvé, nemocné i zdravé stromy vedle sebe. Kromě *P. alni* byly z olší izolovány i jiné druhy hub, ale byly nejčastěji nalezeny na starších lézích způsobených *P. alni*, což by odpovídalo teorii, že *P. alni* je primární patogen a poté, co strom oslabí, může být ten napaden dalšími druhy. Patogen ve Francii tehdy nebyl nalezen v lesních školkách. Symptomy choroby byly nalezeny také ve Francouzském středohoří, ale *P. alni* se zde nepodařilo izolovat. Většina poškození olší zde byla připisována suchu, poklesu hladiny podzemní vody, mrazu nebo kroupám (Streito a kol. 2002).

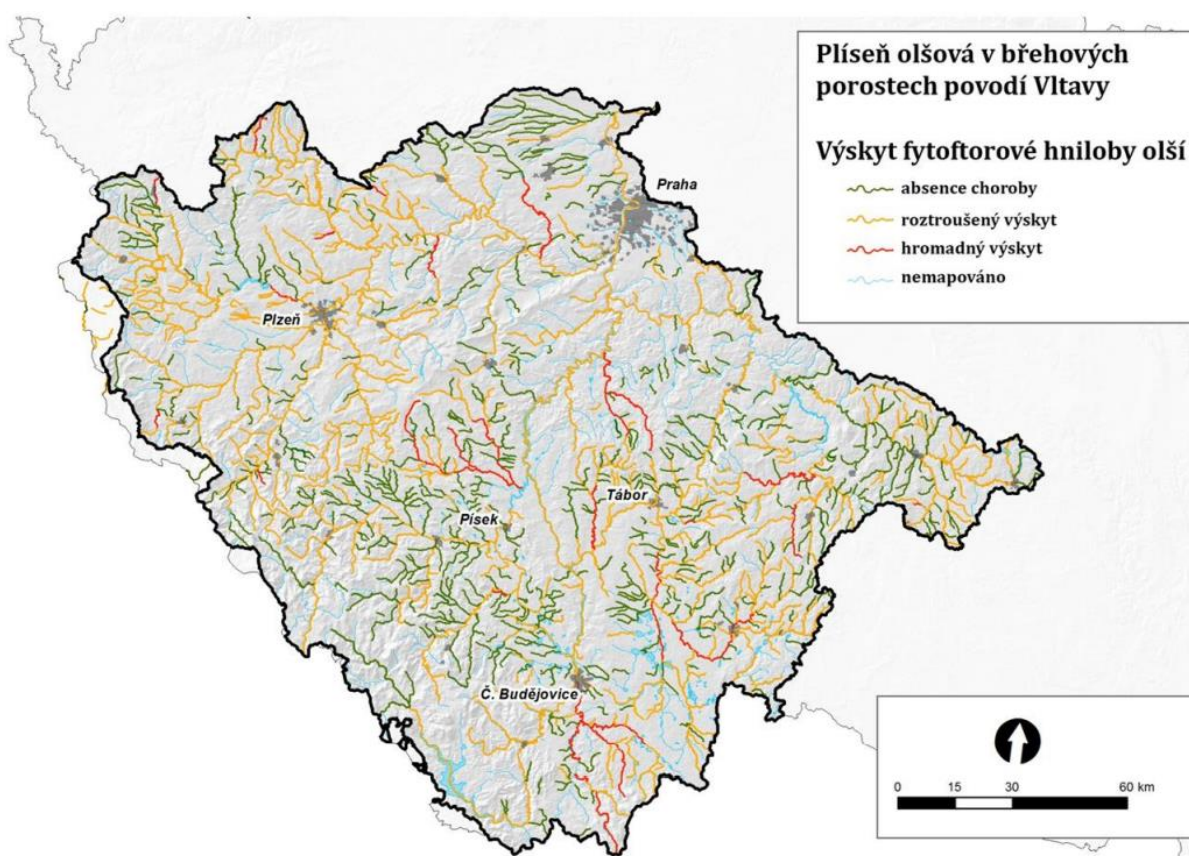
V Německu byl patogen zjištěn nejen na severozápadě (Hartmann 1995), ale i jinde – např. v roce 1998 v mokřadních lesích v biosférické rezervaci Spreewald v Braniborsku (Schumacher a kol. 2006), kde jsou olše dominantním druhem a je zde široce rozvětvená síť vodních toků. V době první izolace *P. alni* zde bylo jen málo stromů s typickými symptomy. Během několika let se zde ale díky vhodným podmínkám druh *P. alni* široce rozšířil – v roce 2003 už bylo napadených přibližně 20 % stromů (Schumacher a kol. 2006). Velmi problematickou se však *P. alni* stal ve spolkové zemi Bavorsko. Od roku 1980 zde bylo vysázeno díky dotacím místní vlády a EU mnoho nových porostů olší (*Alnus glutinosa*, *Alnus incana*). Tyto snahy byly zaměřeny na zalesnění bývalé zemědělské půdy, nahrazení smrků na podmáčených stanovištích a poté hlavně na odstranění škod po orkánu z ledna 1990. Olše se k zalesnění určitých lokalit velmi hodily zejména pro jejich schopnost stabilizovat břehy vodních toků, zpevnit prudké svahy, zlepšit vlastnosti půdy a díky produkci kvalitního dřeva (Jung a Blaschke 2004). Mapování porostů olší napadených *P. alni* odhalilo, že je patogen přítomen v okolí většiny zkoumaných toků (ty dohromady měří kolem 4500 km i s úseky, kde patogen nebyl nalezen, nebo nebyl výzkum prováděn) a navíc i kolem mnoha drobných struh a příkopů. Podél některých řek, kde byly symptomy onemocnění pozorovány už v osmdesátých letech minulého století, převyšoval podíl poškozených dřevin 50 %. V lesních porostech byly napadené olše nalezeny celkem na ploše 1655 ha, přičemž z toho bylo 85 % na nově vysazených plochách a na

zaplavovaných nebo vlhčích stanovištích. Když byl *P. alni* nalezen na stanovištích starších než 20 let, byla to obvykle místa sezónně zaplavovaná nebo místa, kam mohla odtékat voda z nových, infikovaných výsadeb olší. Z výše řečeného vyplývá, že *P. alni* byl na mnohá místa pravděpodobně zavlečen spolu se sazenicemi ze školek a že je to pravděpodobně hlavní způsob, jakým se zde patogen šíří na delší vzdálenosti. Olše se navíc často sázejí na trvale nebo sezónně zaplavovaná stanoviště, což nahrává patogenu, který se odtud pak může snadno šířit pomocí zoospor (Jung a Blaschke 2004).

## 4.5. Česká republika

Vzhledem k tak masivnímu rozšíření patogenu v oblasti Bavorska (Jung a Blaschke 2004) a jeho výskytu v sousedním Rakousku (Cech 1997) se nelze divit, že byl objeven i v České republice, kde byl poprvé izolován v roce 2001 v severozápadních Čechách poblíž Karlových Varů (Černý a kol. 2003). Velmi pravděpodobně se patogen na území státu již vyskytoval delší dobu, protože na Jindřichohradecku bylo popisováno chřadnutí olší se symptomy částečně odpovídajícími napadení *P. alni* už v 80. a 90. letech minulého století (Jančařík 1993). Vzhledem k dalšímu studiu v zjištěných chřadnoucích porostech, kdy se příčinu poškození nepodařilo uspokojivě vysvětlit (Struková a kol. 1996) a vzhledem k souvisejícímu výskytu patogenu v sousedním Rakousku (Litschau; Cech 1997), který je propojen říčním systémem s českými chřadnoucími porosty, by se dalo usuzovat, že zde byla choroba také už před rokem 2000 (Černý a Strnadová 2010). Do roku 2010 byl patogen široce rozšířen na většině území ČR s těžištěm výskytu na západě země. Ve většině případů byly zasaženy břehové porosty olší nebo periodicky zaplavované lokality (Černý a Strnadová 2010).

Podrobný průzkum rozšíření choroby v břehových porostech v povodí Vltavy byl proveden mezi lety 2012–2016. Patogen byl nalezen v okolí větších i menších toků v celkové délce přes 5900 km (celková délka zkoumaných vodních toků byla více než 9600 km; viz obr. 6), přičemž tento údaj mohl být ještě do určité míry podhodnocen. Z toho na 592 km bylo napadení tak masivní, že ohrožovalo stabilitu celých břehových porostů. Větší škody a výskyt *P. alni* byly prokazatelně v místech s pomalejším prouděním vody a obecně na olších, které rostly v těsné blízkosti vodního toku (Černý a kol. 2017a). Celkové škody způsobené v břehových porostech v povodí Vltavy se pohybují v řádu miliard korun (Černý a kol. 2016).



Obr. 6: Rozšíření *P. alni* v povodí Vltavy. Převzato z Černý a kol. (2017a) a upraveno

V lesních porostech byla v ČR choroba nalezena na 50 % zkoumaných lokalit, přičemž asi 80 % z nich bylo v blízkosti vodního toku, odkud byly pravděpodobně kolonizovány. Škody často nebyly tak závažné jako v břehových porostech. Z hlediska predikce potenciálních škod se ukázalo, že nejvíce ohrožené jsou větší souvislé porosty olší v blízkosti vodních toků, kterých je stále velký počet na Moravě a ve Slezsku, kde se druh *P. alni* ještě v takové míře nerozšířil (Černý a kol. 2015b, Černý a kol. 2017b). Byl proveden i průzkum v lesních školkách, avšak v takové míře, jako v Bavorsku se zde patogen nevyskytoval, navíc byl často nalézán i ve starších porostech olší. Jako důležitější se tedy převážně ze začátku invaze jeví šíření vodní cestou (viz Černý a kol. 2015a).

## 5. Šíření patogenu a epidemiologie choroby

Druh *Phytophthora alni* s. l. je nalézán ve všech prostředích, kde roste jeho hostitel. Nejčastěji je nalézán v břehových porostech, vyskytuje se ale i v lesních výsadbách nebo v lesních školkách (Jung a Blaschke 2004, Bjelke a kol. 2016). Jednotlivé druhy *P. ×alni*, *P. uniformis* a *P. ×multiformis* se liší mírou patogenity k olším, přičemž nejvíce nebezpečný je *P. ×alni*, který je velmi agresivní a zároveň v Evropě široce rozšířený (Brasier a kol. 2004). Například v České republice se

na populaci komplexu *P. alni* podílí asi z 88 % *P. ×alni* a z 12 % *P. uniformis* (*P. ×multiformis* zde dosud nebyl nalezen). Přičemž *P. uniformis* je nalézán spíše ostrůvkovitě ve vyšších polohách nebo v okolí drobnějších toků, zatímco *P. ×alni* se vyskytuje ve velké míře v nížinách nebo v okolí větších řek (Štěpánková a kol. 2013).

Nejvyšší podíl olší napadených *P. alni* je v nižších polohách a v okolí pomalu tekoucích velkých řek. Naopak u toků s rychlým prouděním vody je podíl menší (Thoirain a kol. 2007). Například Streito a kol. (2002) poukazovali na vyšší podíl napadených olší v okolí jezer v porovnání s nedalekou řekou. To, že je více napadených olší na dolních tocích, může mimo jiné souviset se způsobem šíření patogenu (tj. po proudu). Střední a dolní toky řek jsou zároveň více poznamenány činnostmi lidí, a tak může docházet k častějšímu zavlečení patogenu (Černý a kol. 2017a, Thoirain a kol. 2007).

Velmi problematická situace nastává, pokud se *P. alni* dostane do lesní školky. Odtud se totiž může prostřednictvím obchodu se školkařským materiálem rychle dostat i na značně vzdálené lokality. Přítomnost *P. alni* v lesních školkách byla ukázána na maloplošném výzkumu přímo ve školkách v Bavorsku, kdy byla choroba nalezena na olších ve třech ze čtyř lesních školek, které sazenice běžně překupovaly od jiných velkých komerčních školek. Minimálně dvě z těchto tří školek zavlažovaly sazenice vodou z řeky, která byla kontaminovaná *P. alni*. Na olších v těchto školkách symptomy choroby na první pohled vidět nebyly, ale projeví se až určitou dobu po vysazení na trvalé stanoviště. Ve školkách, které pěstovaly své vlastní sazenice ze semen, druh *P. alni* nebyl nalezen (Jung a Blaschke 2004). Je také pravděpodobné, že se patogen šíří spolu s rybí násadou. Ve dvou případech v Bavorsku, kdy byl tok infikovaný a nové výsadby tu nebyly, tak zde byly infikované olše poblíž rybích sádek a dále po proudu. Je možné, že tam byl patogen neúmyslně zavlečen v době, kdy byly sádky doplňovány rybami odjinud (Jung a Blaschke 2004). V ČR byl během výzkumu patogen nalezen ve dvou ze 13 testovaných lesních školek a např. v oblasti České Sibiře také ve 32 rybnících, které zjevně fungovaly jako zdroje infekce pro okolí (Černý a kol. 2015a).

*Phytophthora alni* se pravděpodobně šíří převážně pomocí zoospor, které vytváří ve vodním prostředí. Oospory druhu *P. ×alni* jsou velmi často neživotaschopné narozdíl od *P. uniformis* (Brasier a kol. 2004). Dále mohou jako infekční inokulum sloužit části mycelia prorůstající například větve, nebo listy unášené proudem, které je *P. alni* také schopen kolonizovat (Haque a kol. 2015). Nelze se tedy divit, že se *P. alni* vyskytuje nejvíce na olších v místech s dobrou dostupností vody, jako jsou břehy vodních toků, nebo sezónně zaplavovaná stanoviště (Černý a Strnadová 2010). Důležitá je také vzdálenost olší od břehu, většina napadených olší je obvykle velmi blízko, jako například v případě Anglie do 1 m od břehu (Gibbs a kol. 1999). Thoirain a kol. (2007) ukázali, že více jsou ohroženy řeky v níže položených oblastech, kde voda teče pomaleji a po proudu se sem může patogen snadno šířit. Patogen se také dokáže velmi rozšířit během větších povodní, jako byly ty v

roce 2002 (Strnadová a Černý 2008). S tím souvisí i pokles odolnosti olší k patogenu, který nastává při dlouhodobějším zaplavení kořenového krčku stromu (Strnadová a kol. 2010). Nelze vyloučit ani možnost šíření *P. alni* na nohou zvířat nebo obuvi lidí (Adams a kol. 2010, Redondo a kol. 2015, Webber a Rose 2008).

Pro nejrozšířenější druh *P. ×alni* jsou ideální růstové teploty mezi 23 a 25 °C (Černý a Strnadová 2010), přičemž při těchto teplotách působí i největší poškození stromů (Haque a kol. 2015). Přestává růst při 29 °C (Brasier a kol. 2004). Co se týče nízkých teplot, tak v oblasti moravské Dyje v průběhu dvou velmi rozdílných zim se ukázala náchylnost *P. ×alni* k zimním mrazům. Během velmi mírné zimy 2006/2007 s průměrnou teplotou +2,54 °C přežil patogen v pletivech krčků 86 % zkoumaných stromů a naopak během chladné zimy 2008/2009 s průměrnou teplotou -1,96 °C přežil pouze na 14 % zkoumaných stromů. Ukázalo se také, že patogen lépe přežívá ve stromech se silnější borkou, která mohla v zimě fungovat jako izolace (Černý a Strnadová 2012).

S ohledem na teplotu byl prováděn také výzkum ve Švédsku, aby se zjistilo, jestli zimní nízké teploty mohou ovlivnit šíření *P. ×alni* směrem na sever do chladnějších oblastí. Ukázalo se, že geografické rozšíření *P. ×alni* koreluje s měsíční zimní teplotou a s počtem dnů s teplotou nižší než 5 °C v jednotlivých povodích. Druh *P. ×alni* se tedy vyskytoval jen v teplejších oblastech, zatímco *P. uniformis* byl opakovaně izolován v celé zkoumané oblasti jižního Švédska (Redondo a kol. 2015).

Symptomy choroby byly na jihu Švédska viditelné na více než 28 % zkoumaných stanovišť olší, především na mladých stromech (Redondo a kol. 2015). Důvod, proč *P. uniformis* lépe toleruje nízké teploty, může souviset s tím, že *P. ×alni* má problémy s produkcí životaschopných oospor, které pak tomuto druhu neumožní úspěšné přezimování (Delcán a Brasier 2001). Na druhou stranu by měl patogen úspěšně přežívat pomocí mycelia mimo dosah nízkých teplot (na kořenech a krčcích izolovaných opadankou a vrstvou sněhu, případně na kořenech ve vodě pod ledem), to ale nebylo dosud testováno.

Zároveň i zde byl pozorován trend, kdy *P. ×alni* vytlačuje *P. uniformis* z teplejších oblastí, které tento druh obsadil již dříve. *P. uniformis* byl mnohem častěji nalézán v chladnějších oblastech a už mnohem méně často v oblastech s výskytem *P. ×alni*. Toto podporují i data z minulých let. Oba druhy byly ve Švédsku izolovány už v 90. letech. Například na řece Säreån byl nalezen *P. uniformis* v roce 1996, ale v letech 2006 a 2010 už se zde podařilo izolovat pouze *P. ×alni*. Naopak na řece Mölndalsån byla opakovaně v letech 1998, 2006, 2010 a 2013 izolován pouze *P. ×alni*. Vytlačit *P. uniformis* a dlouhodobě se udržet v určitých (především teplejších) oblastech *P. ×alni* dovede pravděpodobně kvůli jeho vyšší agresivitě a možná také díky vyšší produkci zoospor v teplejší vodě (Chandelier a kol. 2006, Redondo a kol. 2015). Kvůli oteplování klimatu se tak možná v budoucnu v Evropě bude teplomilnějším patogenům (včetně *P. ×alni*) víc dařit (Redondo a kol. 2015).

Produkce zoospor je ovlivněna aktivitou bakterií ve vodě. Jejich přítomnost, popřípadě přítomnost jejich metabolitů stimuluje tvorbu sporangií (Chandelier a kol. 2006). Na přežívání

zoospor ve vodě má vliv například elektrická vodivost, která zrcadlí celkové množství rozpuštěných živin a minerálů ve vodě. Obecně například dešťová voda má vodivost nízkou oproti vodě na dolních tocích řek, kde je vodivost poměrně vysoká. Ukázalo se, že zoospory jsou schopné přežívat v širokém rozpětí hodnot elektrické vodivosti, avšak nejvíce se jim dařilo, pokud byly hodnoty vyšší (Kong a kol. 2012). Tyto výsledky souhlasí s pozorováními, při kterých se ukázalo, že nejvíce škod patogen způsobuje na dolních a tedy více znečištěných tocích řek (Černý a kol. 2016, Thoirain a kol. 2007).

Pokud se do nedotčené populace stromů dostane nový, pro hostitele neznámý patogen, často některé stromy přežijí a mohou tedy nést geny pro rezistenci (Budde a kol. 2016). Na druhou stranu mohou být přežívající stromy pouze jedinci náhodně uniknuvší infekci (Redondo a kol. 2020). Během výzkumu ve Švédsku se ukázalo, že druh *P. uniformis* je pravděpodobně schopen ovlivnit genetický profil olší v jím obsazených oblastech, kde pravděpodobně docházelo do určité míry k přirozenému výběru. Toto se však už neprokázalo u *P. ×alni*. Potomci olší z oblastí postižených *P. uniformis* vykazovali po umělé inokulaci tímto patogenem často výrazně větší životaschopnost než potomci olší z oblastí, kde se patogen nevyskytoval (oblasti s olšemi bez známek napadení, dostatečně daleko od napadených oblastí a vodních ploch). Autoři odhadují, že aby se za určitých podmínek u olší ustanovila určitá míra rezistence k *P. ×alni*, bylo by potřeba třikrát více generací, než při adaptování na *P. uniformis*. Domnívají se, že oba druhy byly do Švédska zavlečeny ve stejnou dobu a že pozorovaná rezistence u olší zasažených *P. uniformis* není výsledkem toho, že by zde byl *P. uniformis* delší dobu. Příčinu slabé odpovědi populace olše lepkavé na invazi více patogenní *P. ×alni* autoři nezjistili, předpokládají ale, že příčinou je nízká genetická variabilita v citlivosti hostitele a nikoliv pokles transmisní rychlosti patogenu v důsledku jeho vysoké agresivity (Redondo a kol. 2020).

Do budoucna jsou ohrožené především větší souvislé porosty olší. Nejvíce rizikové oblasti jsou převážně v nižších polohách s hustou říční sítí (např. Třeboňsko), nebo naopak v pahorkatinách, či vrchovinách s méně členitým reliéfem a s vysokým úhrnem srážek (Černý a kol. 2016, Černý a kol. 2017b, Romportl a kol. 2016).

## 6. Závěr

Tato práce shrnuje dosavadní poznatky a vývoj poznání o komplexu *Phytophthora alni*. Zaměřuje se na jeho obecné charakteristiky, rozšíření v Evropě, ekologické nároky a vnitrodruhovou variabilitu. *Phytophthora alni* je organismus ze třídy Peronosporomycetes. Mnoho organismů z této skupiny patří mezi velmi významné rostlinné patogeny, *P. alni* nevyjímaje (Erwin a Ribeiro 1996, Bjelke a kol. 2016, Dick 2013). Druh *Phytophthora alni*, jak je patrné už z jeho jména (*alni* – *Alnus* = olše), napadá olše, způsobuje fytoftorovou hnilobu kořenů a krčků olší, a pokud je

napadení masivní, způsobuje jejich chřadnutí a během jednoho nebo několika let i jejich úhyn (Černý a Strnadová 2010).

Patogen byl poprvé izolován ve Velké Británii v roce 1993 (Gibbs 1995) a brzy na to byl objeven i v dalších evropských zemích, přičemž v některých byl již značně rozšířen (Jung a Blaschke 2004, Streito a kol. 2002). Počátek invaze se tedy nepodařilo zachytit a doba, kdy invaze začala, se dá odhadovat pouze na základě nepřímých zpráv a záznamů o chřadnutí olší (viz např. pro ČR Jančařík 1993). V současné době je patogen pravidelně izolován ve většině evropských zemí a pravděpodobně se dále šíří. Mechanismy šíření na delší vzdálenosti a příčiny rozšíření napříč Evropou nejsou doposud zcela pochopeny, ale jako jedna z cest je často uváděn obchod se sazenicemi olší mezi lesními školkami (Jung a Blaschke 2004). Patogen způsobuje značné ztráty zejména v břehových porostech – v povodí Vltavy v řádech miliard korun (Černý a kol. 2016). To, že jsou škody tak velké, je do značné míry způsobeno tím, že životní prostředí *P. alni* se zásadně překrývá s nikou jeho hostitele – olší (Bjelke a kol. 2016).

Poznání vnitrodruhové struktury druhu *P. alni* se bouřlivě vyvíjelo a dnes se ustálilo v tom smyslu, že původní široký druh *P. alni* s. l. byl rozdělen na tři druhy – rodičovské druhy *P. uniformis* a *P. ×multiformis* a jejich hybridního potomka *P. ×alni*, který je v současné době v Evropě nejrozšířenější (Aguayo a kol. 2016). Tento hybridogenní druh je také velmi agresivní a představuje velké riziko pro populace citlivých hostitelů. V rámci tohoto druhu je známa značná genetická variabilita, i když zatím (v různých zemích a v různé míře) dominuje jediná jeho linie – multilokusový genotyp (MLG) nazvaný Pxa-1 (Aguayo a kol. 2016). Vývoj tohoto taxonu je značně dynamický a například v České republice bylo v poslední době nalezeno mnoho nově vzniklých genotypů (Norkute a kol. nepublikováno). Není zcela jasné, jakým způsobem se struktura druhu vyvíjí a jakými pravidly je řízena a různé studie naznačují různé hypotézy (Aguayo a kol. 2016, Norkute a kol. nepublikováno). Poodhalit tento proces bude náplní následné diplomové práce, kdy bude s využitím determinace multilokusových genotypů například porovnána struktura populace nově kolonizované oblasti se strukturou populace z místa s dlouhodobým výskytem patogenu, porovnán vývoj v geograficky a ekonomicky izolovaných oblastech s podobnými charakteristikami prostředí a rovněž s využitím uložených izolátů a získáním nových z identické oblasti bude popsán vývoj populace v čase.



## 7. Přehled literatury

Adams, G. C., Catal, M., Trummer, L., Hansen, E. M., Reeser, P., & Worrall, J. J. (2008). *Phytophthora alni subsp. uniformis* Found in Alaska Beneath Thinleaf Alders. *Plant Health Progress*, 9(1), 38.

Adams, G. C., Catal, M., & Trummer, L. (2010). Distribution and Severity of Alder *Phytophthora* in Alaska. In: Frankel, S., J. et al. (tech. coords.) *Proceedings of the Sudden Oak Death Fourth Science Symposium. Gen. Tech. Rep. PSW-GTR-229*. Albany, CA, USA, 229, 29-49.

Aguayo, J., Adams, G. C., Halkett, F., Catal, M., Husson, C., Nagy, Z. Á., ... & Frey, P. (2013). Strong genetic differentiation between North American and European populations of *Phytophthora alni subsp. uniformis*. *Phytopathology*, 103(2), 190-199.

Aguayo, J., Elegbede, F., Husson, C., Saintonge, F. X., & Marçais, B. (2014). Modeling climate impact on an emerging disease, the *Phytophthora alni*-induced alder decline. *Global Change Biology*, 20(10), 3209-3221.

Aguayo, J., Halkett, F., Husson, C., Nagy, Z. Á., Szigethy, A., Bakonyi, J., ... & Marçais, B. (2016). Genetic diversity and origins of the homoploid-type hybrid *Phytophthora* × *alni*. *Applied and Environmental Microbiology*, 82(24), 7142-7153.

Bjelke, U., Boberg, J., Oliva, J., Tattersdill, K., & McKie, B. G. (2016). Dieback of riparian alder caused by the *Phytophthora alni* complex: projected consequences for stream ecosystems. *Freshwater Biology*, 61(5), 565-579.

Brasier, C. M., & Hansen, E. M. (1992). Evolutionary biology of *Phytophthora* Part II: Phylogeny, speciation, and population structure. *Annual Review of Phytopathology*, 30(1), 173-200.

Brasier, C. M., Rose, J., & Gibbs, J. N. (1995). An unusual *Phytophthora* associated with widespread alder mortality in Britain. *Plant Pathology*, 44(6), 999-1007.

Brasier, C. M., Cooke, D. E. L., & Duncan, J. M. (1999). Origin of a new *Phytophthora* pathogen through interspecific hybridization. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 96(10), 5878-5883.

Brasier, C. M., & Kirk, S. A. (2001). Comparative aggressiveness of standard and variant hybrid alder phytophthoras, *Phytophthora cambivora* and other *Phytophthora* species on bark of *Alnus*, *Quercus* and other woody hosts. *Plant Pathology*, 50(2), 218-229.

Brasier, C. M., Kirk, S.A., Delcan, J., Cooke, D. E. L., Jung, T., & Man in't Veld, W. A. (2004). *Phytophthora alni* sp. nov. and its variants: designation of emerging heteroploid hybrid pathogens spreading on *Alnus* trees. *Mycological Research*, 108(10), 1172-1184.

Budde, K. B., Nielsen, L. R., Ravn, H. P., & Kjær, E. D. (2016). The Natural Evolutionary Potential of Tree Populations to Cope with Newly Introduced Pests and Pathogens—Lessons Learned from Forest Health Catastrophes in Recent Decades. *Current Forestry Reports*, 2(1), 18-29.

Cech, T. L. (1997). *Phytophthora*-Krankheit der Erle in Österreich. *Forstschutz Aktuell*, 19(20), 14-16.

Claessens, H., Oosterbaan, A., Savill, P., & Rondeux, J. (2010). A review of the characteristics of black alder (*Alnus glutinosa* (L.) Gaertn.) and their implications for silvicultural practices. *Forestry*, 83(2), 163-175.

Černý, K., Gregorová, B., Holub, V., & Strnadová, V. (2003). First records of "alder-*Phytophthora*" in the Czech Republic. *Czech Mycology*, 55(3), 291-296.

Černý, K., & Strnadová, V. (2010). *Phytophthora* alder decline: disease symptoms, causal agent and its distribution in the Czech Republic. *Plant Protection Science*, 46(1), 12-18.

Černý, K., & Strnadová, V. (2012). Winter survival of *Phytophthora alni subsp. alni* in aerial tissues of black alder. *Journal of Forest Science*, 58(7), 328-336.

Černý, K., Strnadová, V., Romportl, D., Mrázková, M., Havrdová, L., Hrabětová, M., ... & Pešková, V. (2015a). Factors affecting *Phytophthora alni* distribution in State Forests of the Czech Republic. In: Sutton W. et al. (tech coords.) *Proceedings of the 7th meeting of the International Union of Forest Research Organization (IUFRO) Working Party S07.02.09*, Argentina, 121-123.

Černý, K., Pešková, V., & Modlinger, R. (2015b). Rozšíření fytoftorového onemocnění olší v lesních porostech ČR – předběžné výsledky. *Zprávy lesnického výzkumu*, 60(3), 201-211.

Černý, K., Strnadová, V., Fedusiv, L., Gabrielová, Š., Haňáčková, Z., Havrdová, L., ... & Romportl, D. (2016). Ekonomické škody způsobené plísní olšovou v břehových porostech vodních toků a nádrží s dominantní olší v modelové oblasti povodí Vltavy. Předběžné výsledky. *Vodní hospodářství*, 66(8), 1-5.

Černý, K., Romportl, D., Strnadová, V., Zahradník, D., Vait, J., & Bárta, V. (2017a). Současné rozšíření fytoftorové hniloby olší v břehových porostech vodních toků povodí Vltavy a faktory ovlivňující rozsah škod. *Vodní hospodářství*, 67(4), 20-25.

Černý, K., Zahradník, D., Chumanová, E., Havrdová, L., Strnadová, V., Romportl, D. (2017b). Fytoftorová hniloba olše - predikce rozšíření a rozsahu choroby v lesních porostech olší v ČR. *Rostlinolékař*, 2017(4), 20-24.

Delcan, J., & Brasier, C. M. (2001). Oospore viability and variation in zoospore and hyphal tip derivatives of the hybrid alder *Phytophthoras*. *Forest Pathology*, 31(2), 65-83.

De Merlier, D., Chandelier, A., Debruxelles, N., Noldus, M., Laurent, F., Dufays, E., ... & Cavelier, M. (2005). Characterization of alder *Phytophthora* isolates from Wallonia and development of SCAR primers for their specific detection. *Journal of Phytopathology*, 153(2), 99-107.

Derelle, R., López-García, P., Timpano, H., & Moreira, D. (2016). A Phylogenomic Framework to Study the Diversity and Evolution of Stramenopiles (=Heterokonts). *Molecular Biology and Evolution*, 33(11), 2890-2898.

Dick, M. W. (2013). Straminipilous Fungi: systematics of the *Peronosporomycetes* including accounts of the Marine Straminipilous Protists, the Plasmodiophorids and similar Organisms. *Springer Science & Business Media*.

Erwin, D. C., & Ribeiro, O. K. (1996). *Phytophthora* diseases worldwide. *American Phytopathological Society (APS Press)*.

Gibbs, J. N. (1995). *Phytophthora* root disease of alder in Britain. *Bulletin OEPP*, 25(4), 661-664.

Gibbs, J. N., Lipscombe, M. A., & Peace, A. J. (1999). The impact of *Phytophthora* disease on riparian populations of common alder (*Alnus glutinosa*) in southern Britain. *European Journal of Forest Pathology*, 29(1), 39-50.

Haque, M. M. U., Hidalgo, E., Martín-García, J., De-Lucas, A. I., & Diez, J. J. (2015). Morphological, physiological and molecular characterization of *Phytophthora alni* isolates from Western Spain. *European Journal of Plant Pathology*, 142(4), 731-745.

Hartmann, G. (1995). Root collar rot of alder (*Alnus glutinosa*) - a previously unknown fungal disease caused by *Phytophthora cambivora*. *Forst und Holz*, 50(18), 555-557.

Husson, C., Aguayo, J., Revellin, C., Frey, P., Ioos, R., & Marcais, B. (2015). Evidence for homoploid speciation in *Phytophthora alni* supports taxonomic reclassification in this species complex. *Fungal Genetics and Biology*, 77, 12-21.

Chandelier, A., Abras, S., Laurent, F., Debruxelles, N., & Cavelier, M. (2006). Effect of temperature and bacteria on sporulation of *Phytophthora alni* in river water. *Communications in Agricultural and Applied Biological Sciences*, 71(3 Pt B), 873-880.

Ioos, R., Andrieux, A., Marcais, B., & Frey, P. (2006). Genetic characterization of the natural hybrid species *Phytophthora alni* as inferred from nuclear and mitochondrial DNA analyses. *Fungal Genetics and Biology*, 43(7), 511-529.

Jančařík V. (1993): Usychání olší. *Lesnická práce*, 72, 14-16.

Jung, T., & Blaschke, M. (2004). *Phytophthora* root and collar rot of alders in Bavaria: distribution, modes of spread and possible management strategies. *Plant Pathology*, 53(2), 197-208.

- Kanoun-Boulé, M., Vasconcelos, T., Gaspar, J., Vieira, S., Dias-Ferreira, C., & Husson, C. (2016). *Phytophthora alni* and *Phytophthora lacustris* associated with common alder decline in Central Portugal. *Forest Pathology*, 46(2), 174-176.
- Kong, P., Lea-Cox, J. D., Moorman, G. W., & Hong, C. (2012). Survival of *Phytophthora alni*, *Phytophthora kernoviae*, and *Phytophthora ramorum* in a simulated aquatic environment at different levels of pH. *FEMS Microbiology Letters*, 332(1), 54-60.
- Landolt, J., Gross, A., Holdenrieder, O., & Pautasso, M. (2016). Ash dieback due to *Hymenoscyphus fraxineus*: what can be learnt from evolutionary ecology?. *Plant Pathology*, 65(7), 1056-1070.
- Lonsdale, D. (2003). *Phytophthora* disease of alder: sources of inoculum, infection and host colonisation. *Forestry Commission Bulletin*, 126, 65-72.
- McVean, D. N. (1953): *Alnus glutinosa* (L.) Gaertn. *Journal of Ecology*, 41(2), 447-466.
- Milgroom M.G. (2015): Population Biology of Plant Pathogens. Genetics, Ecology, and Evolution. *American Phytopathological Society (APS Press)*.
- Olsson, C. H. (1999). Diagnosis of root-infecting *Phytophthora* spp. PhD thesis. *Swedish University of Agricultural Sciences, Uppsala*.
- Orlikowski, L. B., Oszako, T., & Szkuta, G. (2003). First record of alder *Phytophthora* in Poland. *Journal of Plant Protection Research*, 43(1).
- Pintos Varela, C., Rial Martínez, C., Mansilla Vázquez, J. P., & Aguín Casal, O. (2010). First Report of *Phytophthora* Rot on Alders Caused by *Phytophthora alni* subsp. *alni* in Spain. *Plant disease*, 94(2), 273-273.
- Redondo, M. A., Boberg, J., Olsson, C. H., & Oliva, J. (2015). Winter conditions correlate with *Phytophthora alni* subspecies distribution in Southern Sweden. *Phytopathology*, 105(9), 1191-1197.
- Redondo, M. A., Stenlid, J., & Oliva, J. (2020). Genetic Variation Explains Changes in Susceptibility in a Naïve Host Against an Invasive Forest Pathogen: The Case of Alder and the *Phytophthora alni* Complex. *Phytopathology*, 110(2), 517-525.
- Romportl, D., Chumanová, E., Havrdová, L., Pešková, V., & Černý, K. (2016). Potential risk of occurrence of *Phytophthora alni* in forests of the Czech Republic. *Journal of Maps*, 12(sup1), 280-284.
- Santini, A., Barzanti, G. P., & Capretti, P. (2001). A new *Phytophthora* root disease of alder in Italy. *Plant Disease*, 85(5), 560-560.
- Schumacher J., Leonhard S., Grundmann B.M., & Roloff A. (2006). New alder disease in Spreewald biosphere reserve – causes and incidental factors of an epidemic. *Nachrichtenblatt des Deutschen Pflanzenschutzdienst*, 58, 141-147.

Schumann, G. L. (1991). The Irish Potato Famine and the Birth of Plant Pathology. In: *Plant Diseases: Their Biology and Social Impact*. American Phytopathological Society, St. Paul, MN, 1-24.

Sims, L. L., Sutton, W., Reeser, P., & Hansen, E. M. (2015). The *Phytophthora* species assemblage and diversity in riparian alder ecosystems of western Oregon, USA. *Mycologia*, 107(5), 889-902.

Streito, J. C., Legrand, P. H., Tabary, F., & Villartay, G. J. D. (2002). *Phytophthora* disease of alder (*Alnus glutinosa*) in France: Investigations between 1995 and 1999. *Forest Pathology*, 32(3), 179-191.

Strnadová, V., Brejchová, P., & Černý, K. (2007). Olše lepkavá, *Alnus glutinosa* (L.) Gaertn. a její chřadnutí na modelovém příkladu břehových porostů řeky Lomnice. *Acta Průhoniana*, 86, 15-38.

Strnadová, V., & Černý, K. (2008). Chřadnutí olší postižených *Phytophthora alni* a povodněmi. *Lesnická práce*, (2), 20-21.

Strnadová, V., Černý, K., Holub, V., & Gregorová, B. (2010). The effects of flooding and *Phytophthora alni* infection on black alder. *Journal of Forest Science*, 56(1), 41-46.

Struková, S., Vosátka, M., & Pokorný, J. (1996). Root symbioses of *Alnus glutinosa* (L.) Gaertn. and their possible role in alder decline: A preliminary study. *Folia Geobotanica*, 31(1), 153.

Szabó, I., Nagy, Z., Bakonyi, J., & Érsek, T. (2000). First report of *Phytophthora* root and collar rot of alder in Hungary. *Plant Disease*, 84(11), 1251-1251.

Štěpánková, P., Černý, K., Strnadová, V., Hanáček, P., & Tomšovský, M. (2013). Identification of *Phytophthora alni* subspecies in riparian stands in the Czech Republic. *Plant Protection Science*, 49(Special Issue), S3-S10.

Thoirain, B., Husson, C., & Marçais, B. (2007). Risk factors for the *Phytophthora*-induced decline of alder in northeastern France. *Phytopathology*, 97(1), 99-105.

Úradníček, L., Maděra, P., Tichá, S., & Koblížek, J. (2001). Dřeviny České republiky. *Matice lesnická*.

Webber, J. F., & Rose, J. (2008). Dissemination of aerial and root infecting *Phytophthoras* by human vectors. In: Frankel, S. J. et al. (tech. coords.) *Proceedings of the sudden oak death third science symposium*. Gen. Tech. Rep. PSW-GTR-214. Albany, CA, USA, 214, 195-198.